

# Les maladies des palmiers et cocotiers à protozoaires flagellés intraphloémiques en Amérique latine

## (*Phytomonas* sp., *Trypanosomatidae*)

M. DOLLET (1)

### MALADIE DES PALMIERS

On a bien cru au début des années 1970 que le développement du palmier à huile africain en Amérique du Sud serait sérieusement limité par l'existence d'un dépérissement brutal : la Marchitez sorpresiva, dépérissement noté pour la première fois en Colombie en 1963.

Dès qu'elle apparut sur la plantation industrielle d'Indupalma à San Alberto en Colombie, les recherches furent entreprises sur plusieurs fronts. Les analyses physiques et chimiques des sols et des eaux, les diagnostics foliaires, les expériences de drainage permettaient rapidement de rejeter une hypothèse d'ordre agronomique.

Les études nématologiques et mycologiques entreprises par la suite donnèrent également des résultats négatifs. Les recherches furent alors orientées vers l'hypothèse d'un microorganisme transmis par un insecte piqueur-suceur.

Si les recherches entomologiques n'ont pas permis de résoudre le problème étiologique, elles ont par contre eu le gros avantage d'apporter une solution immédiate pour stopper la progression de la maladie ; en effet, la découverte d'une larve de lépidoptère, *Sagalassa valida*, causant de nombreux dégâts racinaires, entraîna la mise en place de traitements insecticides qui eurent pour conséquence directe l'arrêt de la progression de la maladie. Aujourd'hui ces traitements sont réalisés préventivement dans pratiquement toutes les plantations de palmiers à huile d'Amérique du Sud où la marchitez n'est plus un facteur limitant.

Les premiers éclaircissements sur l'étiologie de la marchitez découlent de l'étude ultrastructurale en microscopie électronique. Ces recherches effectuées en 1976 révèlent la présence de protozoaires flagellés dans les tubes criblés du phloème des palmiers malades au Pérou.

L'association spécifique de ces protozoaires flagellés au syndrome de marchitez fut vérifiée ensuite en Equateur, en Colombie et au Surinam.

### MALADIE DES COCOTIERS

Au Surinam d'ailleurs, une équipe américaine venait également de mettre en évidence l'association de protozoai-

res flagellés intraphloémiques à une maladie d'origine inconnue du cocotier, décrite pour la première fois en 1908, et qui tua 25 000 cocotiers en 15 ans : le Hart-Rot. Un an plus tard à Trinidad, ce même type d'organismes était trouvé associé à un dépérissement local du cocotier, le Cedros wilt qui avait fait disparaître 15 000 arbres depuis 1975.

Si, sur la Côte Pacifique, en Equateur et en Colombie le développement du cocotier n'a pas évolué, en restant au stade de petites plantations privées, c'est que l'on redoutait principalement les dépérissements dus aux nématodes transportés par les rhynchophores et provoquant la fameuse maladie de l'Anneau rouge. Or l'étude systématique de cocotiers dépérissants en Equateur nous a permis de démontrer en 1979, que, dans la grande majorité des cocoteraies atteintes soi-disant par l'Anneau rouge, on ne trouvait pratiquement jamais le symptôme typique avec cet « anneau rouge », mais on pouvait par contre révéler la présence de protozoaires flagellés.

Après cette énumération de cas, on peut déjà facilement se rendre compte de l'importance du problème posé par ces dépérissements liés à des protozoaires flagellés. Mais il est d'autant plus grave qu'il n'affecte pas uniquement les palmacées. En effet, la « nécrose du phloème » du caféier, maladie apparue à la fin du siècle dernier au Surinam et qui a entraîné la disparition de l'industrie du café dans ce pays, est également liée à la présence de tels flagellés. Et de nombreuses maladies de plantes cultivées sont encore d'origine inconnue dans le Nord de l'Amérique latine !

### LES PROTOZOAIRES FLAGELLÉS

Dans le cas du Hart-Rot, comme pour la marchitez, les flagellés ont été découverts en microscopie électronique, dans le 1<sup>er</sup> cas parce que l'hypothèse mycoplasme avait d'abord été envisagée, dans le second, dans une hypothèse plus élargie d'un microorganisme inaccessible par les techniques classiques de phytopathologie.

Les flagellés, localisés uniquement dans les tubes criblés, sont entourés d'une membrane pelliculaire tapissée intérieurement de microtubules. Le cytoplasme contient un noyau, des corps denses et une masse fibrillaire riche en acides nucléiques, le kinétoplaste, qui est à la base du flagelle. Le flagelle prend naissance dans une poche, il est

(1) Département Virologie I.R.H.O./GERDAT B. P. 5035, 34032 Montpellier Cedex (France).

formé de 9 groupes de 2 microtubules périphériques et 2 microtubules centraux. Les flagellés apparaissent parfois engagés dans les pores des tubes criblés. La possibilité d'un passage actif d'un tube criblé à l'autre par ces organismes et le rôle de l'encombrement stérique du phloème seront discutés par le Dr Parthasarathy.

Mais étant donné leur longueur relativement importante, en moyenne 20 microns, une méthode de diagnostic, plus facilement abordable que la microscopie électronique, peut maintenant être utilisée. Elle consiste à pratiquer, à partir d'une goutte de sève, un frottis sur lame mince que l'on fixe et colore au Giemsa. Avec un peu d'habitude on peut même ensuite se contenter d'examen directs d'une goutte de sève fraîche pour observer les organismes vivants.

L'étude morphologique et ultrastructurale de ces organismes permet de les classer dans la famille des *Trypanosomatidae*. On pourrait, en attendant de plus amples informations sur les propriétés biologiques et physico-chimiques, les classer dans le genre *Phytomonas* car, en fait, l'existence des trypanosomes chez les végétaux est connue depuis 1909.

## TRYPANOSOMES DE PLANTES À LATEX

En effet, à cette date, un vétérinaire de l'île Maurice découvrit, tout à fait par hasard, des trypanosomes dans le latex de plusieurs euphorbes. Il fut très vite montré que ces trypanosomes pouvaient parasiter de nombreuses espèces appartenant aux Asclépiadiacées, Euphorbiacées, Urticacées, Apocynacées, etc. dans une vaste distribution géographique s'étendant sur les 2 hémisphères. Mais, ce parasitisme n'entraînant aucun dommage d'ordre économique, ce domaine n'a pratiquement jamais intéressé les phytopathologistes.

Aujourd'hui pourtant, ces trypanosomes de plantes adventices retiennent l'attention. C'est ainsi que dans les palmeraies d'Equateur on trouve fréquemment des euphorbes et asclépiades parasitées, avec parfois un effet pathologique possible comme chez *Euphorbia lasiocarpa*. Une étude de morphologie comparée des trypanosomes d'adventices et de palmier sera présentée par Cambrony *et al.* dans la session Posters. On note des différences morphologiques sensibles mais on sait par ailleurs qu'il peut y avoir un effet de l'hôte sur leur configuration morphologique. Le rôle éventuel de plantes réservoirs de ces plantes à latex est donc quand même envisagé.

## TRANSMISSION

Le problème dans cette hypothèse réside au niveau de la transmission. On sait que chez les plantes à latex les flagellés sont apportés par des hémiptères hétéroptères, des punaises. Y aurait-il donc une possibilité de passage de ces trypanosomes du latex d'adventices au phloème de palmiers. Le Dr Griffith nous a parlé de cette possibilité à la suite des expériences qu'il a réalisées avec le Lygacide *Oncopeltus cingulifer* entre *Asclepias curassavica* et le cocotier.

## CONCLUSION

Les recherches actuelles sur ce type de maladie ont donc franchi un premier cap avec :

1 — les expérimentations empiriques qui ont conduit aux traitements insecticides préventifs ;

2 — la démonstration de la spécificité d'association de ces syndromes avec la présence de trypanosomes.

Un travail de fond en matière de sélection commence également à apporter des résultats. Ainsi, l'hybride *Elaeis guineensis* × *Elaeis melanococca* présente une tolérance satisfaisante à la marchitez. Le Dr Alexander nous a parlé des possibilités de résistance au Hart-Rot avec le cocotier.

Mais le maximum de moyens à mettre en œuvre pour en arriver à une lutte intégrée véritable, passera par l'isolement et la culture de l'agent causal.

Il reste donc à prouver la nature pathogénique de ces trypanosomes et passer, pour cela, par l'obtention d'une culture axénique et réintroduction dans la plante. Il s'agit là d'une étape très délicate. Une culture de trypanosomes d'Euphorbes a pu être réussie dans un milieu synthétique liquide additionné de sérum, et nous en avons fait l'objet d'un poster. La mise au point d'un complexe antibiotique antifongique, permettant la survie de ces organismes mais éliminant les contaminants secondaires, permettra sans doute la réussite complète de la culture des trypanosomes de palmiers.

Ces cultures permettront également, par des méthodes sérologiques, biochimiques et biophysiques :

— de comparer les organismes issus de différentes plantes,

— de faire l'inventaire des plantes réservoirs,

— de faire une approche efficace de la recherche du vecteur,

— de tester beaucoup plus rapidement les variétés pour la recherche de résistance, et arriver ainsi à une véritable lutte intégrée.

# ***Intraphloemic flagellate protozoa*** **(Phytomonas sp. Trypanosomatidae)** **diseases of the oil palm and coconut** **in Latin America**

M. DOLLET (1)

## **OIL PALM DISEASE**

In the early seventies, it really seemed that development of the African oil palm in Latin America would be seriously limited by the existence of a sudden wilt known as *Marchitez sorpresiva*, which was first observed in Colombia in 1963.

As soon as the disease appeared on the San Alberto (Colombia) *Indupalma* industrial plantation, research was undertaken on several fronts. Physical and chemical analyses of soils and water, leaf diagnoses, drainage experiments, soon made it possible to exclude any agronomic hypothesis.

Nematological and mycological studies carried out subsequently also led to negative results. Research was then orientated towards the hypothesis of a micro-organism transmitted by a stinging-sucking insect.

Though entomological research has not yet solved the etiological problem, its immediate very positive effect has been to find a solution which arrested the spread of the disease: the discovery of *Sagilassa valida*, a Lepidoptera larva, responsible for heavy root damage, led to insecticide treatments being applied, and the spread of the disease being arrested. Nowadays, such preventive treatments are carried out on almost all South American oil palm plantations, where *Marchitez* is no longer a limiting factor.

Ultrastructural study in electronic microscopy led to the first elucidations of *Marchitez* etiology; carried out in 1976, studies showed the presence of flagellate protozoa in the phloem sieve tubes of sick palms in Peru.

The specific association of these flagellate protozoa with *Marchitez* syndrome was later verified in Ecuador, Colombia and Surinam.

## **COCONUT DISEASE**

Furthermore, in Surinam, an American team had just shown the association of intraphloemic flagellate protozoa with a coconut disease of unknown origin described for the first time in 1908 and which killed 25 000 coconuts in 15 years: « *Hart Rot* ». One year later, in Trinidad, the same type of organism turned up associated to a local coconut wilt, *Cedros Wilt*, which killed 15 000 trees since 1975.

The fact that coconut development on the Pacific Coast, in Ecuador and Colombia/has scarcely evolved, remaining at the stage of small private plantations, can be attributed essentially to anxiety about wilts due to nematodes carried by Rhynchophora, agents of the notorious Red Ring disease. It so happens that systematic study of Ecuadorian coconuts affected by wilt enabled us to demonstrate in 1979 that the vast majority of the groves said to be suffering from Red Ring in fact almost never presented the symptom typical of this « red ring ». On the other hand, flagellate protozoa were clearly shown to be present.

This list of case studies should make it quite simple to grasp the size of the problem posed by wilts linked to flagellate protozoa, all the more serious in that palms are not the only plant affected. Coffee phloem necrosis, which appeared at the end of the nineteenth century in Surinam, wiping out that country's coffee industry, is also linked to the presence of such flagellates. In Northern Latin America, the origin of many diseases of cultivated plants remains to be discovered!

## **FLAGELLATE PROTOZOA**

In the case of *Hart Rot*, as in that of *Marchitez*, flagellates were discovered in electronic microscopy, in the first case because the mycoplasma hypothesis had been entertained from the outset, in the second, on the basis of a broader hypothesis of a micro-organism inaccessible by classical phytopathological techniques.

The flagellates, located in the sieve tubes alone, are surrounded by a pellicular membrane the inside of which is lined with micro-tubules. The cytoplasm contains a nucleus, dense bodies, and a fibrillar mass rich in nucleic acids, kintoplast, at the base of the flagellum. The latter, which emerges from a pocket, is composed of 9 groups of 2 peripheric micro-tubules and 2 central micro-tubules. The flagella sometimes appear in the pores of the sieve tubes. Dr. Parthasarathy will discuss the possibility that these organisms move actively from one sieve tube to another, as well as the role of steric obstruction of the phloem.

As they are fairly long, however, about 20 microns on average, a diagnostic method more accessible than electronic microscopy can now be used. It involves making a thin-plate smear from a drop of sap, fixed and coloured with Giemsa. With practice, direct examination of a drop

(1) I.R.H.O./GERDAT Virology Department BP 5035, 34032 Montpellier Cedex (France).

of fresh sap to observe the living organisms can even suffice.

Morphological and ultrastructural study of these organisms leads us to classify them in the Trypanosomatidae family. Until such time as fuller data is available on their biological and physico-chemical properties, they can be classified in the genus *Phytomonas* : in point of fact, the presence of Trypanosomes in plants has been recognised since 1909.

### LATEX PLANT TRYPANOSOMES

In 1909, a Mauritius Island veterinarian discovered quite by accident Trypanosomes present in the latex of several *Euphorbia*. These trypanosomes were soon shown to parasitise many species belonging to the Asclepiadiaceae, Euphorbiaceae, Urticaceae, Apocynaceae, etc., geographically very wide-spread over both hemispheres. But since such parasitism caused no economic damage, phytopathologists' interest was never aroused in the field.

Nowadays, however, attention is being devoted to these weed Trypanosomes. In Ecuadorian palm groves, parasitised Euphorbiaceae and Asclepiadiaceae are often found ; a pathological effect is sometimes possible, as in the case of *Euphorbia lasiocarpa*. A study of the comparative morphology of weed and oil palm Trypanosomes will be presented by Cambrony and colleagues during the poster session. Marked morphological differences are observed, but the host has been known to influence their morphological configuration. This is why a possible role of reservoir plants of these latex plants is still under consideration.

### TRANSMISSION

The problem with this hypothesis lies at the transmission level. Flagellates in latex plants are known to be carried by Heteroptera Hemiptera, bugs. Could these Trypanosomes

possibly pass from the latex of the weeds to the oils palms' phloem ? Dr. Griffith was discuss this on the basis of experiments carried out on the Lygaeid *Oncopeltus cingulifer* between *Asclepias curassavica* and the coconut.

### CONCLUSION

A major step forward has been taken in current research on this type of disease with :

1 — empirical experiments leading to preventive insecticide treatments,

2 — demonstration of the specificity of the association of these syndromes with the presence of Trypanosomes.

The fruits of basic work on breeding are also beginning to appear. Thus, the hybrid *Elaeis guineensis* × *Elaeis melanococca* shows satisfactory tolerance to Marchitez. Dr. Alexander was shortly be addressing us on possibilities for coconut resistance to Hart Rot.

Nonetheless, isolation and culture of the causal agent is absolutely fundamental if true integrated control is ever to be arrived at.

The pathogenic nature of these Trypanosomes must therefore be proven, which involves obtaining an axenic culture to be reintroduced into the plant. This is the tricky stage. A culture of Euphorbiaceae Trypanosomes was successfully obtained in a synthetic liquid medium to which serum had been added ; we have dealt with this in a poster. To succeed fully in oil palm Trypanosome culture, an antifungic antibiotic complex allowing the organisms to survive, but eliminating secondary contaminants, will have to be developed.

Through serological, biochemical and biophysical methods, these cultures will also make it possible to :

— compare organisms from different plants,

— make an inventory of reservoir plants,

— develop an efficient approach to the search for the vector,

— test varieties for resistance much more rapidly, and thus, to arrive at true integrated control.

---

#### Titres des communications et posters présentés dans la même session :

---

- Structural relationships between coconut palm tissues and *Phytomonas*, the presumed pathogen of hartrot.  
**M. V. Parthasarathy**, Section of Plant Biology, Cornell University, Ithaca, New York (U.S.A.), **R. B. McGhee** and **A. H. McGhee**, Department of Zoology, University of Georgia, GA (U.S.A.).
- Present status of research including resistance of different varieties of coconut to hartrot in Suriname.  
**V. T. Alexander**, Ministry of Agriculture, Paramaribo (Suriname).
- The origin and method of transmission of microorganisms associated with cedros wilt disease of coconuts.  
**R. Griffith**, Ministry of Agriculture, Trinidad (W. I.).
- Culture de protozoaires flagellés (*Phytomonas* sp. Trypanosomatidae) de plante à latex (*Euphorbia pinea* L.) en milieu liquide.  
**M. Dollet**, **D. Cambrony**, **D. Gargani**, Laboratoire Virologie I.R.H.O./GERDAT, Montpellier (France).
- Les maladies des palmiers et cocotiers à protozoaires flagellés intra-phloémiques (*Phytomonas* sp. Trypanosomatidae) en Amérique latine.  
**M. Dollet**, Laboratoire Virologie I.R.H.O./GERDAT, Montpellier (France).
- Etude morphologique et comparaison des protozoaires flagellés (*Phytomonas*) associés à la Marchitez du palmier à huile, et de ceux hébergés par les plantes à latex (Euphorbiacées, Asclepiadiacées).  
**D. Cambrony**, **F. Bonnot**, **M. Dollet**, Laboratoire Virologie, I.R.H.O./GERDAT, Montpellier (France).